



TITLE:

リガンド結合ポケットの特徴を利用した新規共有結合性PPARアゴニストの創製( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

大寺, 杏奈

---

CITATION:

大寺, 杏奈. リガンド結合ポケットの特徴を利用した新規共有結合性PPARアゴニストの創製. 京都大学, 2018, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2018-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21281>

RIGHT:

(続紙 1 )

京都大学	博士（生命科学）	氏名	大寺 杏奈
論文題目	リガンド結合ポケットの特徴を利用した新規共有結合性PPAR $\gamma$ アゴニストの創製		
(論文内容の要旨)			
<p>PPAR<math>\gamma</math> (peroxisome proliferator-activated receptor <math>\gamma</math>)は、糖や脂質の代謝に重要な機能を果たす核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子である。そのリガンドで、糖尿病薬として臨床で用いられているチアゾリジン誘導体は、フルアゴニストとして機能するが、浮腫や腫瘍形成などの副作用が指摘されている。そのため、構造が新規なPPAR<math>\gamma</math>アゴニストが求められている。</p> <p>本研究では、PPAR<math>\gamma</math>のリガンド結合ポケットが、複数のサブポケットから構成されるY字型の空洞を有しており、その深さは他の核内受容体と比較して大きいことに着目した。即ち、PPAR<math>\gamma</math>のリガンド結合ポケットに、二つのリガンドが同時に結合することで、協調的に PPAR<math>\gamma</math>の活性化を引き起こす化合物の組み合わせを見出し、これらを融合することで、新奇な化学構造を有するPPAR<math>\gamma</math>アゴニストの創製を目指した。</p> <p>まず、新規リガンド作成にあたり、PPAR<math>\gamma</math>アンタゴニストであるGW9662に着目した。GW9662は、PPAR<math>\gamma</math>のリガンド結合ドメイン(LBD)にある285番目のシステイン残基(Cys 285)と、求核置換反応を介して共有結合を形成し、アゴニストの結合を競合的に阻害するが、それ自体がPPAR<math>\gamma</math>を不活化しない。そこで、PPAR<math>\gamma</math>リガンド依存的な転写活性化を評価するルシフェラーゼレポーターアッセイを用いてGW9662と協調的に PPAR<math>\gamma</math>の転写活性を増大させるパートナーリガンドを探索する目的で、種々の植物抽出液を対象にスクリーニングを行った結果、バンウコン (<i>Kaempferia galanga</i> L.) 根茎のメタノール抽出物が選択された。種々のクロマトグラフィー法を駆使し、NMR、質量分析を行い、その抽出物に含まれるパートナーリガンドである4-メトキシけい皮酸エチルを同定した。さらにMolegro Virtual Dockerを用いたドッキングシミュレーションにより、GW9662結合時のPPAR<math>\gamma</math> リガンド結合ポケットにおける4-メトキシけい皮酸エチルの推定結合部位を明らかにした。得られた推定結合様式をもとに両化合物を融合させた構造のハイブリッドリガンドの設計を行い、7段階の反応でその合成に成功した。合成されたハイブリッドリガンドは、元のGW9662が有していたCys285への共有結合能を有し、<math>\mu</math>M以下の濃度でPPAR<math>\gamma</math>を特異的に活性化する親和性の高いリガンドであることが明らかとなり、目的とした親和性の高い共有結合性ハイブリッドリガンドの創製に成功した。本研究で創製したハイブリッドリガンドは、PPAR<math>\gamma</math>リガンド結合ドメインのヘリックス3の軸周辺に巻きつくような結合様式を取り得ることが示唆された。この結合様式は、内在性リガンドの一種である15-oxo-eicosatetraeinoic acidの結合様式を部分的に模倣する一方で、よりヘリックス3および<math>\Omega</math>ループの周辺領域を安定化する可能性が考えられた。このことから、ハイブリッドリガンドは既存の共有結合性リガンドと一部異なる結合様式を取り得る新しいタイプの共有結合性アゴニストであると考えられた。</p> <p>以上より、PPAR<math>\gamma</math>のリガンド結合ポケットの特殊性に着目し、共有結合性アンタゴニストGW9662のパートナーリガンドをスクリーニングして見出し、これらを融合したハイブリッドリガンドを創製するという方法論を考案し、新奇共有結合性アゴニストの創製に成功したことが示された。創製された新奇アゴニストはGW9662のアニリン部位に疎水性構造を付加した化学構造を有し、これまでに報告されているアゴニストの骨格構造と大きく異なる。このことから本方法論は、創薬における重要な課題である候補化合物の多様化に貢献しうると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

糖や脂質の代謝に重要な機能を果たす、核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子であるPPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ )のアゴニストとして、糖尿病薬として臨床で用いられているチアゾリジン誘導体が知られているが、浮腫や腫瘍形成などの副作用が指摘されている。そのため、本研究では既存のアゴニストとは構造の異なる新奇なPPAR $\gamma$ アゴニストの創製を目指したものであり、以下の点が評価できる。

- 1) PPAR $\gamma$ のリガンドが結合するポケットが、複数のサブポケットから構成され、他の核内受容体と比較して大きい空洞を持つことに着目し、PPAR $\gamma$ の285番目のシステイン残基 (Cys285) に共有結合するアンタゴニストGW9662と同時に結合することで、協調的にアゴニスト活性を示すパートナーリガンドとして、バンウコン (*Kaempferia galanga* L.) 根茎由来の4-メトキシけい皮酸エチルを同定した。
- 2) ドッキングシミュレーションにより、GW9662結合時のPPAR $\gamma$ リガンド結合ポケットにおける4-メトキシけい皮酸エチルの推定結合部位を明らかにした。
- 3) 得られた推定結合様式を元に両化合物を融合させた構造のハイブリッドリガンドの設計を行い、その合成に成功した。合成されたハイブリッドリガンドは、元のGW9662が有していたCys285への共有結合能を有し、 $\mu\text{M}$ 以下の濃度でPPAR $\gamma$ を特異的に活性化する親和性の高いアゴニストであった。
- 4) 既存の内因性PPAR $\gamma$ アゴニストの一種の15-oxo-eicosatetraenoic acidと、今回合成したハイブリッドリガンドは、PPAR $\gamma$ リガンド結合ドメインのヘリックス3の軸周辺に巻きつくような結合様式を取りうる点では類似しているが、よりヘリックス3、および $\Omega$ ループ周辺領域を安定化する可能性を示した。このことから、今回合成したハイブリッドリガンドは、既存の共有結合性リガンドと一部異なる結合様式を取り得る、新奇な共有結合性アゴニストであると考えられた。
- 5) リガンド結合ドメインに同時に結合する複数のリガンドによる協調的な活性化に着目し、一つのリガンドを固定して、そのリガンドに対する天然由来のパートナーリガンドを探索し、ドッキングシミュレーションでその結合様式を推定することで、両者を融合したハイブリッドリガンドを創製するといった新しい方法論を考案した。

以上のように、本研究は核内受容体のPPAR $\gamma$ に対する既存のアゴニストとは異なる構造の新奇共有結合性アゴニストを創成したことを示す成果として、生化学、創薬の分野に大きく貢献するものである。また、記載内容から、申請者は生命科学に関する高度で幅広い知識、専攻分野における優れた研究能力を有し、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示していると判定できた。また、本論文は論理的かつ一貫性を持って記述されていた。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成30年2月27日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日：                      年                      月                      日